

BIOHEMIJSKE I PATOHISTOLOŠKE PROMENE MOŽDANOG I JETRINOG TKIVA PACOVA IZAZVANE ZRAČENJEM MOBILNIH TELEFONA

Boris Đinđić¹, Dušan Sokolović², Dejan Krstić³, Dejan Petković³, Jovica Jovanović⁴ i Marjan Muratović¹

Mikrotalasno zračenje (MWR) je široko rasprostranjeno u savremenom ljudskom okruženju, a najčešći izvori su mobilni telefoni i repetitori mobilne telefonije. Efekti MWR na žive organizme još uvek su nepoznati i za sada još uvek ne postoji dovoljno podataka o dugotrajnim efektima na hepatocite i moždane strukture.

Cilj rada bio je da se ispituju biološki efekti mikrotalasnog zračenja mobilnih telefona na mozak i jetru eksperimentalnih životinja i odredi intenzitet oksidativnog stresa kao mogućeg patogenetskog faktora za nastanak štetnih efekata u uslovima dugotrajne ekspozicije.

Wistar pacovi, stari 3 meseca, bili su podeljeni u dve grupe: I-pacovi konstantno izloženi MWR-u (3 ženke i 2 mužjaka) i II-kontrolna grupa bez bliskih izvora MWR (3 ženke i 2 mužjaka). Kao izvor mikrotalasnog zračenja poslužio je mobilni test telefon (model NOKIA 3110; Nokia Mobile Phones Ltd.) povezan sa komunikacionim test setom (model 4202S; Wavetek, Germany). Signal za GSM (Globalni Sistem Mobilne komunikacije) frekvencije 900 MHz, kninuranog talasa, analogne telefonije korišćen je za zračenje. Specifični koeficijent apsorpcije preračunat na celo telo (SAR) iznosio je 0.025-0.05 W/kg (E=9.8-18.3 V/m, B=4.8-8.6 μ T). Pacovi su žrtvovani nakon tri meseca izlaganja MWR-u. Tkivo jetre i mozga je fiksirano u 10% formaldehidu, a parafinski isečci su bojeni hematoksilin-eozinom. Biohemijska analiza je obuhvatila određivanje serumske aktivnosti alanin transferaze (ALT), aspartat transaminaze (AST), gama glutamil transferaze (GGT) i laktat dehidrogenaze (LDH). Elektroliti u serumu su obuhvatili određivanje natrijuma, kalijuma i hlorida. Step en lipidne peroksidacije je određivan merenjem količine malondialdehida (MDA).

Blago povećan broj mikronukleusa i diskretne perivenularne masne promene bile su jedini histopatološki nalaz na jetri eksponiranih pacova. Diskretna redukcija sive mase i blaga redukcija broja i dendritičnih snopova Purkinjeovih ćelija bile su jedini vidljivi nalaz na moždanom tkivu eksponiranih pacova. Serumska aktivnost ALT bila je značajno povećana, dok se vrednosti AST, GGT i LDH nisu menjale u uslovima MWR ekspozicije. Serumska koncentracija kalijuma bila je značajno veća u stanjima ekspozicije dok se vrednosti natrijuma i hlorida nisu značajnije menjale. Vrednosti MDA bile su značajno povećane u jetri i mozgu pacova izloženih MWR-u.

Ekspozicija mikrotalasnom zračenju mobilnih telefona u trajanju od 3 meseca dovela je do značajnog porasta lipidne peroksidacije kao direktnog pokazatelja oštećenja hepatocita i moždanog tkiva. Hiperkaliemija može predstavljati sistemski marker poremećaja permeabilnosti ćelijskih membrana paralelno sa porastom ALT aktivnosti usled hepatocelularnog oštećenja. Poremećaji hipotalamo hipofizne osovine su najverovatniji uzrok neurovegetativnih i poremećaja ponašanja; čime se može objasniti porast apetita, razdražljivost i brži prirast mase ekponiranih životinja. *Acta Medica Medianae 2010;49(1):37-42.*

Ključne reči: mobilni telefon, mikrotalasno zračenje, GSM, oksidativni stres, jetra, mozak

Institut za patofiziologiju, Medicinski fakultet, Niš¹
Institut za biohemiju, Medicinski fakultet, Niš²
Fakultet zaštite na radu, Niš³
Zavod za zdravstvenu zaštitu radnika, Niš⁴

Kontakt: Boris Đinđić
Bulevar dr Zorana Đinđića 81, 18000 Niš, Srbija
E-mail: boris_dj@medfak.ni.ac.rs

Uvod

Nejonizujuće zračenje (NIR) je široko rasprostranjeno u savremenom ljudskom okruženju. Najčešći izvori ovog zračenja su mobilni telefoni i repetitori mobilne telefonije koji emituju NIR u spektru mikrotalasnog zračenja (MWR). Ovi izvori proizvode elektromagnetna polja (EMF) čiji su efekti na ljude i životnu sredinu još uvek nepoznati.

Uobičajeno je shvatanje da su ljudi otporni na efekte GSM (Global System for Mobile Communication) radijacije, jer se veruje da je intenzitet ovih zračenja vrlo mali, daleko ispod granica na kojima bi se javili neželjeni efekti grejanja tkiva. Ovi termički efekti su kvantifikovani kroz specifični koeficijent apsorpcije, skraćeno nazvan SAR. Ovakvo shvatanje je uslovljeno zabudom da se neželjeni efekti ovog zračenja kod ljudi ispoljavaju samo usled zagrevanja tkiva.

Pulsno mikrotalasno zračenje niskog intenziteta, koje se trenutno koristi u sistemu GSM telefonije, ispoljava i diskretne netermičke efekte na ljudsko telo. Ovi efekti su posledica različitih električnih oscilatornih aktivnosti u ljudskom organizmu, od kojih se svaka karakteriše svojom

frekvencijom i pri čemu su neke od njih vrlo bliske frekvenciji koju koristi GSM.

Postoje brojni eksperimentalni dokazi o netermičkim efektima MWR na žive organizme koji su publikovani u naučnoj literaturi poslednjih 30 godina. Neke in vitro studije ukazuju na pojavu povećane epileptiformne aktivnosti u mozgu pacova, kao i poremećaja prostorne orijentacije i pamćenja kod miševa, kao posledice porasta oksidativnog stresa u uslovima ekspozicije mikrotalasnom zračenju (4). Takođe, registrovana je smanjena efikasnost i citotoksičnost limfocita (5), povećana permeabilnost membrane eritrocita i porast hemolize (6), poremećaj elektrohemijskih procesa u mozgu sa porastom efluksa kalcijuma, porast hromozomskih aberacija i pojava mikronukleusa u humanim limfocitima (1), sinergistički efekat sa kancerogenim supstancama, kao što je forbol estar (7).

U in vivo studijama, netermalni efekti, koji nastaju kao posledica izlaganja MWR-u poreklom od GSM, pre svega su proučavani na animalnim modelima. Neki od važnih nalaza ovih studija su: porast epileptiformne aktivnosti mozga kod pacova izloženih MWR, porast embrionalnog mortaliteta, porast permeabilnosti hematoencefalne barijere i membrana hepatica, porast jednolančanih i dvolančanih prekida molekula DNK, češće formiranje mikronukleusa u jetrinom parenhimu i moždanom tkivu pacova (8,9). Uglavnom su rani efekti minimalni i mogu se ispoljiti kao oštećenje genetskog materijala, poremećaji enzimske aktivnosti, histološke promene i dr. Još uvek je nedovoljan broj literaturnih podataka koji ukazuju na efekte dugoročne ekspozicije MWR-u na hepatocite i moždano tkivo.

Cilj rada

Cilj rada bio je ispitivanje bioloških efekata mikrotalasnog zračenja mobilnih telefona na moždano i tkivo jetre u eksperimentalnih životinja i određivanje porasta intenziteta oksidativnog stresa kao mogućeg patogenetskog faktora za razvoj štetnih efekata u uslovima dugotrajne izloženosti.

Materijal i metode

Za ispitivanje su korišćene odrasle jединke Wistar Albino pacova uzgajani u Vivarijumu Instituta za biomedicinska istraživanja Medicinskog fakulteta u Nišu, pod standardnim laboratorijskim uslovima. Wistar pacovi stari 3 meseca podeljeni su u dve grupe: I grupa - pacovi konstantno izloženi MWR (3 ženke i 2 mužjaka) i II grupa - kontrolne životinje bez bliskih izvora EMF (3 ženke i 2 mužjaka).

Sve životinje, kako u kontrolnoj tako i eksperimentalnoj grupi, držane su zajedno u polikarbonatnim, plastičnim kavezima veličine 30x40x40cm (ŠxDxV) sa slobodnim pristupom hrani i vodi (ad libitum). Kavezi su bili smešteni u prostoriji sa temperaturom koja se održava oko 24°C i relativnom vlažnošću oko 42±5%, pri čemu je ciklus dana i noći iznosio oko 12-12-h (dan je u proseku trajao od 06:00-18:00 h).

Eksperimentalna grupa je kontinuirano bila izložena MWR mobilnih telefona. Mikrotalasno

zračenje je produkovano uz pomoć test mobilnog telefona (model NOKIA 3110; Nokia Mobile Phones Ltd.) povezanog sa Komunikacijskim Test Setom (model 4202S; Wavetek, Germany). Dobijen je signal za GSM (Global System for Mobile communication na 900 MHz, kontinuiranih talasa, analognog telefona). Specifični koeficijent apsorpcije energije preračunat za celo telo (SAR) iznosio je 0.025-0.05 W/kg (E=9.8-18.3 V/m, B=4.8-8.6 μT, H=3.7-6.9 mA/m, P=1.3-2.7 mW). Merenje parametara EMF urađeno je pomoću merača AARONIA AG Germany, Spectranplus HF 6080.

Mobilni telefon je bio smešten u centru kaveza na udaljenosti 3 cm od poda i maksimalnim distancama do uglova kaveza od 28.2 cm.

Pacovi su žrtvovani nakon 3 meseca. Pacovi su pre žrtvovanja anestetizirani sa ketamin HCl (50 mg/kg), datim intraperitonealno (i.p.). Nakon uzimanja, tkivo jetre i mozga je fiksirano u 10% formaldehidu. Parafinski preseki su bojeni hematozilom eozinom. Biološki efekti su određivani posmatranjem individualnog i kolektivnog ponašanja i promena telesne mase. Telesna masa i količina upotrebljene hrane su takođe evidentirani na početku i kraju eksperimenta.

Intenzitet lipidne peroksidacije u tkivu mozga i jetre određen je spektrofotometrijski, na osnovu tiobarbituratnih produkta (TBA) prema metodi Ohkawa i sar. (1979). Apsorpcija homogenata je merena na 532 nm. Malondialdehid (MDA) – krajnji produkt lipidne peroksidacije je izražavan na mg/proteina, koristeći molekularni koeficijent ekstinkcije MDA (1.56 x 10⁻⁵ mol cm⁻¹). Proteini mozga su određivani metodom po Lowry-ju (Lowry i sar., 1951), koristeći goveđi serumski albumin kao standard.

Uzorci krvi iz aorte skupljani su u plastične heparinizirane epruvete za biohemijske analize. Biohemijske analize su obuhvatile određivanje serumske aktivnosti AST (Aspartat aminotransferaze), ALT (Alanin transaminaze), GGT (Gamma-glutamil transpeptidaze) i LDH (Laktat dehidrogenaze), kao i određivanje serumske koncentracije natrijuma, kalijuma i hlorida, standardnim laboratorijskim postupcima.

Statistička analiza

Podaci su analizirani korišćenjem komercijalnog statističkog paketa (SPSS® for Windows, v. 9.0, Chicago, USA). Rezultati su prezentovani kao srednja vrednost ±SD. Statistička značajnost je determinisana na nivou p<0.05 korišćenjem Student-ovog T-testa.

Rezultati

Životinje izložene mikrotalasnom zračenju mobilnih telefona ispoljile su agresivnije ponašanje i brži prirast u telesnoj masi u odnosu na kontrolne neekspozirane životinje (Δ% 60.9 vs. 52). Uključenjem mobilnog telefona dolazi do podizanja životinja na zadnje noge i njihove težnje da se izdignu iznad nivoa antene. Ove životinje ujedno pokazuju veći stepen uznemirenosti i anksioznosti. Prosečna težina ekspaniranih životinja tokom studije prikazana je u Tabeli 1.

Jedini histopatološki nalaz kod pacova izloženih MWR-u je blagi porast broja mikro-nuleusa i diskretne perivenularne masne promene u jetri. Na preparatima moždanog tkiva nisu registrovane evidentne histopatološke promene, ali je prisutna diskretna redukcija sive mase i smanjen broj i veličina dendritičnih vretena Purkinje-ovih ćelija u cerebelumu.

Izlaganje mikrotalasnom zračenju mobilnih telefona dovodi do značajnog porasta serumske koncentracije kalijuma ($p < 0.05$) u odnosu na kontrolu. Koncentracije natrijuma i hlorida nisu se značajnije razlikovale između eksponirane i kontrolne grupe (Tabela 2).

Tabela 2. Efekti ekspozicije MWR-u na koncentraciju serumskih elektrolita

	Na	K	Cl
Eksponirana grupa	151.25±0.9	4.15±0.25*	109±3.36
Kontrolna grupa	153.5±4.65	3.77±0.26	109.5±2.38

Podaci su prikazani kao srednja vrednost±SD;
* $p < 0.05$ vs. kontrola

Efekti izlaganja MWR-u mobilnih telefona na tkivo jetre i serumske koncentracije jetrenih enzima prikazani su u Tabeli 3.

AST (Aspartat aminotransferaza), ALT (Alanin transaminaza), GGT (Gamma-glutamil transpeptidaza), LDH (Laktat dehidrogenaza)

Nisu registrovane značajnije promene u serumskim aktivnostima ALT, GGT i LDH nakon dugotrajnog izlaganja MWR-u u trajanju od 3 meseca. Aktivnost AST značajno je porasla u serumu pacova izloženih mikrotalasnom zračenju mobilnih telefona ($p < 0.05$) (Tabela 3).

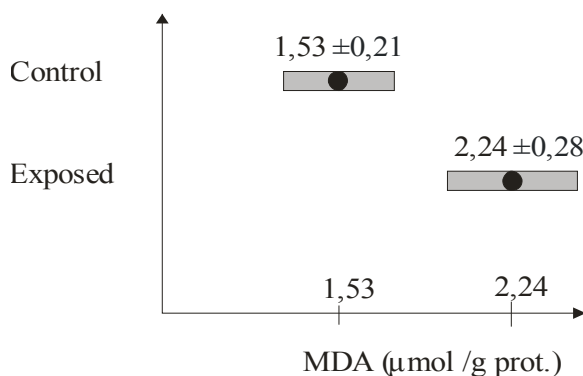
Nivo intenziteta lipidne peroksidacije u tkivu jetre meren kroz koncentraciju MDA prikazan je na Grafikonu 1.

Životinje izložene EM polju imaju porast intenziteta oksidativnog stresa i lipidne peroksidacije u hepatocitima, što se manifestuje porastom nivoa MDA. Intenzitet lipidne peroksidacije (MDA) značajno raste za oko (1.46 puta) u ekspo-

niranim životinjama (2.24±0.28 vs. 0.53±0.21 $\mu\text{mol/g}$ proteina), što najverovatnije izaziva ubrzano oštećenje integriteta plazma membrane hepatocita (Grafikon 1).

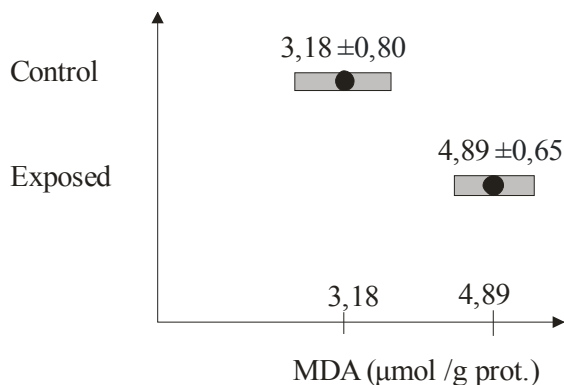
Nivo intenziteta lipidne peroksidacije u moždanom tkivu meren kroz koncentraciju MDA prikazan je na Grafikonu 2

Koncentracija MDA u moždanom tkivu je značajno viša (1.53 puta) kod pacova izloženih elektromagnetnom polju mobilnog telefona (4,89±0.65 vs. kontrola 3.18±0.8 $\mu\text{mol/g}$ proteina, $p < 0.01$).



Podaci su prikazani kao srednja vrednost±SD;
* $p < 0.05$ vs. kontrola

Grafikon 1. Koncentracija MDA u tkivu jetre



Podaci su prikazani kao srednja vrednost±SD;
* $p < 0.05$ vs. kontrola

Grafikon 2. Koncentracija MDA u moždanom tkivu

Tabela 1. Prirast telesne mase tokom studije

Telesna težina (g)		Početak studije	Kraj studije	$\Delta\%$
Eksponirana grupa	ženke/ mušjaci	190/200	306/321.5	61/60.7
	ukupno	194±12	312.2±48.5	60.9
Kontrolna grupa	ženke/ mušjaci	192/203	292/308	52/51.7
	ukupno	196.4±14	298.4±35.2	52

Tabela 3. Efekti izlaganja MWR-u mobilnih telefona na serumske koncentracije jetrenih enzima

U/L	ALT	AST	GGT	LDH
Eksponirana grupa	66.5±10.4	175.5±17.1*	5.75±0.95	312.75±86.3
Kontrolna grupa	63.25±10.5	154.2±38.1	5.75±0.5	278.5±56.5

Podaci su prikazani kao srednja vrednost±SD; * $p < 0.05$ vs. kontrola

Diskusija

Životinje izložene mikrotalasnom zračenju mobilnih telefona ispoljavaju agresivnije ponašanja i brži prirast telesne mase u odnosu na kontrolnu grupu neeksponiranih životinja (Tabela 1). Neke strukture mozga (globus pallidus, substantia nigra, hipotalamus) posebno su podložne povećanoj produkciji OH. radikala. Ujedno, moždano tkivo je relativno deficitarno sa enzimima antioksidativne zaštite (superoksid dizmutaza-SOD, glutation peroksidaza-GSH-Px i katalaza-CAT), pri čemu je distribucija ovih enzima neravnomerna i zavisi od uzrasta osobe (10-11) (13). Remećenje ovih funkcija dovodi do poremećaja u sferi afektivnog ponašanja ali i do poremećaja u neurovegetativnim funkcijama, čime se mogu objasniti navedene promene ponašanja i navike u ishrani životinja izloženih EMP.

Ovo ukazuje na moguću mehanizam povećane osetljivosti pojedinih struktura centralnog nervnog sistema (CNS) na delovanje EM polja, koje se prevashodno ogleda u poremećajima hipotalamičko-hipofiznih funkcija (12). Remećenje ovih funkcija dovodi do poremećaja u sferi afektivnog ponašanja ali i do poremećaja u neurovegetativnim funkcijama, čime se mogu objasniti navedene promene ponašanja i navike u ishrani (povećani apetit i porast telesne mase) životinja izloženih MWR-u. Uglavnom, različiti neurološki poremećaji se javljaju kao posledica izlaganja mikrotalasnom zračenju mobilnih telefona, uključujući glavobolju i poremećaje sna (13).

Histopatološki nalaz diskretne redukcije sive mase i smanjenog broja i veličine dendritičnih produžetaka Purkinje-ovih ćelija malog mozga u skladu je sa literaturnim podacima (14). Membrane neurona bogate polinezasićenim masnim kiselinama su osnova za normalno funkcionisanje i integritet nernih ćelija. Ovakva hemijska struktura je glavni razlog njihove osetljivosti na porast produkcije slobodnih radikala. Pokazano je da primarne promene neuronskih struktura bivaju kasnije praćene oštećenjem glijalnih i endotelnih ćelija. U skladu sa tim, pokazano je da porast lipidne peroksidacije, meren kroz količinu MDA, ima pozitivan povezanost sa stepenom oštećenja moždanog tkiva (15).

Dugotrajno izlaganje mikrotalasnom zračenju povećava apoptozu ćelija i dovodi do funkcionalnih poremećaja u većem broju ćelijskih tipova, što može predstavljati osnovu buduće terapije karcinoma (16-17). Apoptotički procesi se manifestuju kroz porast broja mikronuklearnih ćelija i diskretne perivenularne masne promene, što je takođe nađeno u ovoj studiji.

Porast serumske koncentracije kalijuma kod eksponiranih životinja (Tabela 2) može predstavljati indikator oštećenja ćelijskih membrana. Ovo je najverovatnije posledica povećanog permeabiliteta membrana i curenja kalijuma, što je sve uzrokovano oksidativnim oštećenjem membrana ili poremećajem funkcije jonskih kanala (18).

Serumska aktivnost ALT, GGT i LDH ne pokazuje značajnije promene nakon dugotrajne ekspozicije MWR-u. Međutim, u eksperimentalnoj grupi je registrovan značajan porast AST aktivnosti u serumu (Tabela 3). Evidentno je da NIR, slično onom iz mobilnih telefona, ispoljava direktne

štetene efekte na celularnom i subcelularnom novou destabilizujući ćelijske membrane i remećajući signalne puteve transdukcije. Direktne posledice ovih efekata je curenje citozolnih enzima i poremećaj energetskeg metabolizma hepatocita. Akutno i hronično izlaganje imaju sposobnost da izazovu poremećaj funkcija ćelijske membrane sa porastom permeabilnosti i jonskog transporta. Značajan porast ALT aktivnosti ukazuje na citotoksični efekat NIR na hepatocite, uključujući apoptozu i nekrozu, kao što je prethodno opisano. Povećana produkcija kiseoničnih radikala i posledično oštećenje membrane su mehanizmi ćelijskog oštećenja izazvanog elektromagnetnim poljem u opsegu mikrotalasa (19).

Ova studija pokazuje značajne nalaze vezane za intenzitet oksidativnog stresa u mozgu i jetri pacova izloženih MWR-u mobilnih telefona. Pokazano je da mobilni telefon dovodi do oksidativnog oštećenja moždanog i tkiva jetre povećavajući nivo lipidne peroksidacije i MDA (Grafikon 1 i 2).

Nervni sistem je posebno osetljiv na produkciju i porast količine slobodnih radikala. Ovo je uslovljeno njegovim visokim stepenom metaboličke aktivnosti, njegovim slabim antioksidativnim mehanizmima i smanjenom proliferacijom ćelija. Sokolovic i sar. (2009) iznose nalaze o oštećenju neurona uzrokovanom netermalnim efektom mikrotalasnog zračenja koje dovodi do povećane lipidne peroksidacije i oksidativne modifikacije proteina (20). Lipidna peroksidacija je u ovim uslovima od posebnog interesa. Opisani su direktni i indirektni efekti lipidne peroksidacije. Direktni efekti su posledica lipidne peroksidacije ćelijskih membrana koji uključuju: gubitak fluidnosti, smanjenje električne otpornosti, depresiju pokretljivosti proteina u membrani i porast fosfolipidne izmene između lipidnih slojeva membrane (21). Indirektni efekti lipidne peroksidacije su verovatno manje vidljivi ali ne i manje opasni. Aldehidi koji se stvaraju kao posledica lipidne peroksidacije su biološki aktivni molekuli. Jedan od njih, malonaldehid (MDA) ima sposobnost da se vezuje i agregira proteine membrane. Ova kompleksna reakcija slobodnih radikala, aldehida i drugih produkata lipidne peroksidacije dovodi do destukcije proteina membrane. MDA je ključni i završni produkt lanca reakcija koje vode oksidaciji polinezasićenih masnih kiselina i zato služi kao pouzdan marker lipidne peroksidacije izazvane oksidativnim stresom u mozgu pacova (22).

Zaključak

Rezultati studije ukazuju na značajan porast stepena lipidne peroksidacije kao direktnog indikatora oštećenja tkiva jetre i mozga u uslovima dugotrajne (90 dana) ekspozicije mikrotalasnom zračenju mobilnih telefona. Hiperkaliemija može predstavljati sistemski marker poremećaja fluidnosti ćelijskih membrana i porasta njihove permeabilnosti, zajedno sa porastom serumske aktivnosti ALT kao markera hepatocelularnog oštećenja. Poremećaji hipotalamo hipofizne osovine dovode do poremećaja u afektivnom ponašanju i neurovegetativnim funkcijama, čime se objašnjavaju observirane promene ponašanja, porast apetita i brže dobijanje na težini izloženih životinja.

Literatura

- Djindjic B, Radic S, Krstic D, Sokolovic D, Pavlovic T, Petkovic D, Radosavljevic J. Exposure to electromagnetic field by using mobile telephones and its influence on the brain functions. *Facta Universitatis* 2003; 3(2): 2-12.
- Savopol T. Membrane damage of human red blood cells induced by low power microwave radiation. *Electro-and Magnetobiology* 1995; 14(2): 99-105.
- Paulraj R, Behari J. The effect of low level continuous 2.45 GHz waves on enzymes of developing rat brain. *Electromagnetic Biol Med* 2002; 21(3):221-31.
- Dabrowski MP, Stankiewicz W, Kubacki R, Sobiczewska E, Szmigielski S. Immunotropic effects in cultured human blood mononuclear cells pre-exposed to low-level 1300 MHz pulse-modulated microwave field. *Electromagnetic Biol Med* 2003; 22(1):1-13.
- Balcer-Kubiczek K, Harrison GH. Neoplastic transformation of C3H/10T1/2 cells following exposure to 120Hz modulated 2.45GHz microwaves and phorbol ester tumour promoter. *Radiation Res* 1991;126:65-72.)
- Guney M, Ozguner F, Oral B, Karahan N, Mungan T. 900 MHz radiofrequency-induced histopathologic changes and oxidative stress in rat endometrium: protection by vitamins E and C. *Toxicol Ind Health* 2007; 23(7):411-20.
- Djindjić B, Sokolović D, Radić S, Pavlović T, Cvetković M, Radisavljević J. Biološki efekti mikrotalasnog zračenja na moždano tkivo kod pacova. *Acta medica Medianae* 2003; 42(2):9-13.
- Hossmann KA, Hermann DM. Effects of electromagnetic radiation of mobile phones on the central nervous system. *Bioelectromagnetics*. 2003;24(1): 49-62.
- Belyaev IY, Koch CB, Terenius O, Roxstrom-Lindquist K, Malmgren LO, Sommer W, et al. Exposure of rat brain to 915 MHz GSM microwaves induces changes in gene expression but not double stranded DNA breaks or effects on chromatin conformation. *Bioelectromagnetics* 2006;27(4):295-306.
- Amara S, Douki T, Garel C, Favier A, Sakly M, Rhouma KB, Abdelmelek H. Effects of static magnetic field exposure on antioxidative enzymes activity and DNA in rat brain. *Gen Physiol Biophys* 2009; 28(3):260-5.
- Sasaki T, Unno K, Tahara S, Shimada A, Chiba Y, Hoshino M, Kaneko T. Age-related increase of superoxide generation in the brains of mammals and birds. *Aging Cell* 2008; 7(4):459-69.
- Burch JB, Reif JS, Yost MG. Geomagnetic activity and human melatonin metabolite excretion. *Neurosci Lett* 2008; 438(1):76-9.
- Abdel-Rassoul G, El-Fateh OA, Salem MA, Michael A, Farahat F, El-Batanouny M, et al. Neurobehavioral effects among inhabitants around mobile phone base stations. *Neurotoxicology* 2007; 28(2):434-40.
- Tsurita G, Nagawa H, Ueno S, Watanabe S, Taki M. Biological and morphological effects on the brain after exposure of rats to a 1439 MHz TDMA field. *Bioelectromagnetics* 2000; 21(5):364-71.
- Ilhan A, Gurel A, Armutcu F, Kamisli S, Iraz M, Akyol O, Ozen S. Ginkgo biloba prevents mobile phone-induced oxidative stress in rat brain. *Clin Chim Acta* 2004; 340(1-2):153-62.
- Elson E. I. The little explored efficacy of magnetic fields in cancer treatment and postulation of the mechanism of action. *Electromagn Biol Med* 2009; 28(3):275-82.
- Atasoy A, Sevim Y, Kaya I, Yilmaz M, Durmus A, Sonmez M, et al. The effects of electromagnetic fields on peripheral blood mononuclear cells in vitro. *Bratisl Lek Listy* 2009; 110(9):526-9.
- Paulraj R, Behari J. The effect of low level continuous 2.45 GHz waves on enzymes of developing rat brain. *Electromagnetic Biol Med* 2002; 21(3):221-31.
- Lahijani MS, Tehrani DM, Sabouri E. Histopathological and ultrastructural studies on the effects of electromagnetic fields on the liver of preincubated white leghorn chicken embryo. *Electromagn Biol Med* 2009; 28(4):391-413.
- Sokolovic D, Djindjic B, Nikolic J, Bjelakovic G, Pavlovic D, Kocic G, et al. Melatonin reduces oxidative stress induced by chronic exposure of microwave radiation from mobile phones in rat brain. *J Radiat Res (Tokyo)* 2008; 49(6):579-86.
- Spiteller G. Do changes in the cell membrane structure induce the generation of lipid peroxidation products which serve as first signalling molecules in cell to cell communication? *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 2002; 67(2-3):151-62.
- Koylu H, Mollaoglu H, Ozguner F, Nazyroglu M, Delibab N. Melatonin modulates 900 Mhz microwave-induced lipid peroxidation changes in rat brain. *Toxicol Ind Health*. 2006; 22(5):211-6.

BIOCHEMICAL AND HISTOPATHOLOGICAL EFFECTS OF MOBILE PHONE EXPOSURE ON RAT HEPATOCYTES AND BRAIN

Boris Đinđić, Dušan Sokolović, Dejan Krstić, Dejan Petković, Jovica Jovanović and Marjan Muratović

Microwave radiation MWR is widespread in human environment. The most frequent sources of MWR are mobile phones and cell towers. The effects of MWR are still unknown and there are insufficient data about long-term MWR effects on hepatocytes and brain structures.

The aim of this paper was to investigate the biological effects of mobile phone microwave radiation on the brain and liver of experimental animals and to determine the increase in oxidative stress as a possible pathogenetic mechanism for harmful effects of long-term exposure.

Wistar rats, 3 months old, were divided into two groups: I-rats constantly exposed to MWR (3 female and 2 male) and II-control animals without near source of electromagnetic field (EMF) (3 female and 2 male). The microwave radiation was produced by a mobile test phone (model NOKIA 3110; Nokia Mobile Phones Ltd.) connected to a Communication Test Set (model 4202S; Wavetek, Germany). A 900 MHz electromagnetic near-field signal for GSM (Global System for Mobile communication at 900 MHz, continuous wave, analog phone) system was used. The whole-body specific energy absorption (SAR) rate was estimated as 0.025-0.05 W/kg ($E=9.8-18.3$ V/m, $B=4.8-8.6$ μ T). Rats were sacrificed after 3 months of MWR exposure. The liver and brain were fixed in 10% formaldehyde and paraffin sections were stained by HE. The biochemical analyses comprised the determination of serum activity of AST (Aspartate aminotransferase), ALT (Alanine transaminase), GGT (Gamma-glutamyl transpeptidase) and LDH (Lactate dehydrogenase), as well as determination of serum concentration of sodium, potassium and chloride. Lipid peroxidation was determined by measuring the quantity of malondialdehyde (MDA).

Slightly increased number of micronuclei and discrete perivenular fatty changes were only histopathological findings in the liver of exposed rats. The discrete reduction of gray matter and reduced size and number of dendritic spines of Purkinje cells in cerebellum were notified as well. The serum activity of ALT was significantly increased ($p<0.05$), while activities of AST, GGT and LDH did not change in the exposed rats. Potassium serum concentration was significantly higher in the exposed rats, while the concentration of sodium and chloride did not differ. The MDA concentration was significantly higher in the brain and liver tissues of MWR-exposed rats.

The results in this study show significant increase in lipid peroxidation as a direct indicator of the hepatocytes and brain cells' injury under a long-term (90 days) mobile phone microwave exposure. The hyperkalemia could be the possible systemic marker of impaired cells membrane fluidity and increased permeability, alongside with increased ALT activity as marker of hepatocellular damage. Disorders of hypothalamo- hypophyseal axis lead to disturbances in affective behaviour, but also to disturbances of neurovegetative functions, which leads to behavioral changes and increased appetite and weight gain in exposed animals. *Acta Medica Medianae* 2010;49(1):37-42.

Key words: mobile phones, microwave radiation, GSM, oxidative stress, liver, brain